



①⑨ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenl gungsschrift**  
⑩ **DE 43 37 528 A 1**

⑳ Aktenzeichen: P 43 37 528.6  
㉔ Anmeldetag: 4. 11. 93  
㉕ Offenlegungstag: 20. 7. 95

⑤① Int. Cl.<sup>8</sup>:  
**G 01 N 33/483**  
G 01 N 33/53  
G 01 N 21/64  
A 61 B 10/00  
C 12 Q 1/24  
G 06 F 19/00  
// G 06 F 159:00

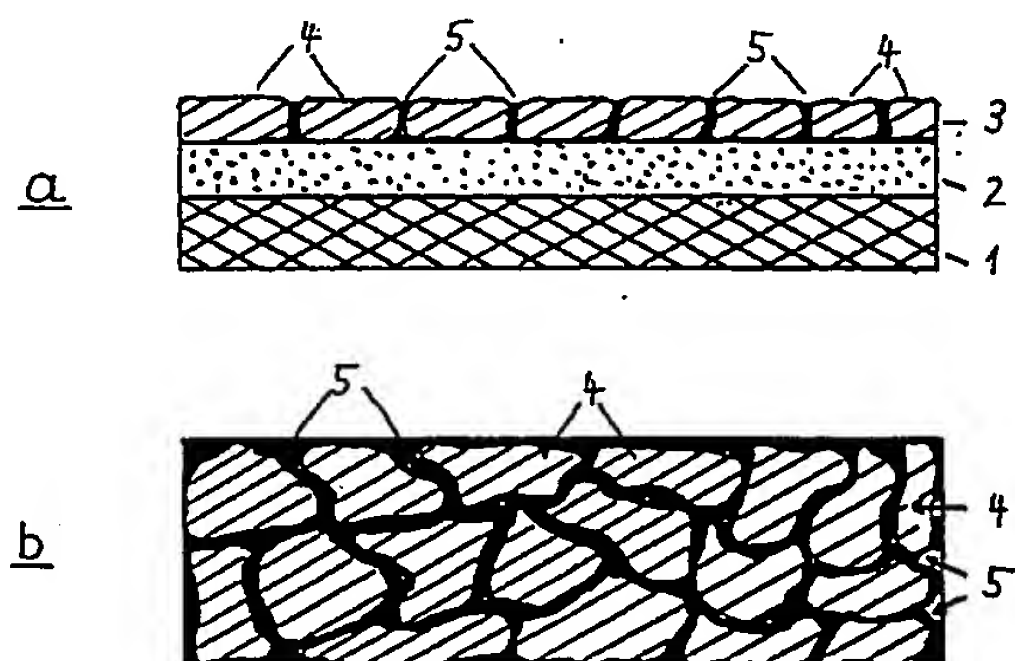
DE 43 37 528 A 1

㉚ Anmelder:  
Bode, Lothar, 65329 Hohenstein, DE  
  
㉛ Vertreter:  
Blumbach, Kramer & Partner, 65193 Wiesbaden

㉜ Erfinder:  
gleich Anmelder

⑤④ Verfahren zur Zustandsfeststellung an Hautgewebe

⑤⑦ Es werden ein Verfahren und eine Vorrichtung zur nichtinvasiven Feststellung von Zuständen an Hautgewebe- und Hautzellenrückseiten mit Hilfe einer Rechnerbildanalyse beschrieben. Dabei wird zunächst dem Hautgewebe durch Aufbringen eines mit einer Haftsubstanz (2) versehenen Objektträgers (1) eine Probe (3) entnommen. Danach erfolgt eine bildmäßige Erfassung des Objektträgers (1) mit der anhaftenden Probe (3) im Auflicht auf die dem Objektträger abgewandte Rückseite. Danach kann dann das Bild einer Auswertung unterzogen werden (Fig. 1).



DE 43 37 528 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNESDRUCKEREI 05.95 508 029/3

5/32

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur nichtinvasiven Feststellung von Zuständen an Hautgewebe- und Hautzellenrückseiten mittels einer Rechnerbildanalyse.

Es ist bekannt, Hautgewebeproben zur Feststellung von Zuständen mikroskopisch im Durchlicht zu untersuchen, beispielsweise im Kosmetikbereich. Solche Untersuchungen gestalten sich jedoch schwierig, weil scharfe Abbildungen in der Durchsicht nur bei sehr dünnen Gewebeschnitten einer Probe möglich sind, wobei außerdem die Ausrichtung der Schnittebenen zusätzliche Schwierigkeiten bereitet. Die Auswertung der so gewonnenen Bilder ist daher nicht nur umständlich, sondern auch ungenau, weil beispielsweise das Verhältnis der Zellenflächen zur Fläche der Zwischenräume nur schwer bestimmbar ist.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren der eingangs genannten Art anzugeben, das nicht nur einfach anzuwenden ist, sondern auch aussagekräftige und reproduzierbare Ergebnisse schnell liefert. Die zur Lösung der Aufgabe erforderlichen Schritte sind im Patentanspruch 1 gekennzeichnet.

Die Probeentnahme mittels eines mit einer Haftsubstanz versehenen Objektträgers gestaltet sich sehr einfach. Trotzdem wird bei richtiger Dimensionierung der Haftsubstanz jeweils definiert eine Probe in Form einer ein- oder höchstens mehrlagigen Zellschicht entnommen. Die Haftsubstanz kann beispielsweise ein Acrylatpolymer sein. Als Objektträger dient eine dünne Glas- oder Kunststoffplatte oder auch ein flexibler Film.

Da die Probe im Auflicht auf die dem Objektträger abgewandte Rückseite betrachtet wird, also auf diejenige Seite, die vor der Probenentnahme zum Körperinneren gerichtet war, spielt die Transparenz des Objektträgers, der Haftsubstanz und der Probe selbst keine oder nur eine untergeordnete Rolle. Ohne zusätzliche Schnitte kann direkt von der freiliegenden Seite der Probe ein scharfes und klares Bild gewonnen werden. Dieses Bild läßt sich in gewünschter Weise reproduzierbar auswerten.

Die Begriffe "Hautgewebe", "Hautzellen" usw. sollen hier im weitesten Sinne verstanden werden. Neben menschlicher und tierischer Haut kann es sich dabei auch um die äußeren Zellschichten von Pflanzen handeln.

Weiterbildungen der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

So kann vorgesehen sein, daß der Entnahmeschritt zur Gewinnung von Proben aus Schichten unterschiedlicher Tiefe der Epidermis mehrfach an der gleichen Stelle wiederholt wird. Man gewinnt dann sozusagen Proben übereinander liegender Zellschichten, die getrennt ausgewertet und mit anderen Proben verglichen werden können. Zur besseren bildmäßigen Erfassung und demgemäß späteren Auswertung kann die Probe nach der Entnahme mit markierten Antikörpern präpariert oder auch selektiv gefärbt werden.

Bei der bildmäßigen Erfassung läßt sich mit Vorteil ein Fluoreszenz-Mikroskopieverfahren im Auflicht verwenden. Dabei kann dann als Auflicht auch ultraviolettes Licht eingesetzt werden.

Bei der Auswertung der im Auflicht gewonnenen Bilder kann in an sich bekannter Weise das Längen- oder Breitenverhältnis, das Flächenverhältnis, das Helligkeitskontrastverhältnis oder/und das Farbabweichungsverhältnis der jeweiligen Probezellen zu ihren Zwischenräumen oder auch von Probezellen zu vorgegebe-

nen Referenzwerten sowie auch von Zellzwischenräumen zu vorgegebenen Referenzwerten erfaßt werden.

Eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens sieht die Verwendung eines Auflichtmikroskops mit nachgeschalteter Videokamera, vorzugsweise einer Farbkamera, vor, deren Ausgangssignale einem Rechner zugeführt werden. Der Rechner ist so programmiert, daß er die jeweils gewünschte Auswertung auf der Grundlage der erfaßten Flächenverhältnisse bzw. anderer Verhältnisse der obengenannten Art durchführt. Dem Rechner ist zweckmäßig ein Speicher zur Aufnahme der bei der Auswertung gewonnenen Daten zugeordnet und zwar getrennt für die jeweiligen Proben. Die den Daten zugrunde liegenden Bilder sowie die Daten selbst können dann später in gewünschter Weise untersucht, verglichen und weiter verarbeitet werden. Außerdem ist dem Rechner zweckmäßig ein Drucker zugeordnet, der die gewonnenen Daten und/oder Bilder ausgeben kann.

Nachfolgend werden Einzelheiten und ein Ausführungsbeispiel der Erfindung anhand der Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

Fig. 1 einen Objektträger mit einer Probe im Schnitt und in der Aufsicht;

Fig. 2 schematisch eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach der Erfindung.

In Fig. 1a ist schematisch und im Schnitt eine entnommene Hautprobe dargestellt. Dabei sind zur besseren Veranschaulichung die Größenverhältnisse nicht maßstäblich gewählt. Auf einem Träger 1, beispielsweise einem Kunststofffilm, ist eine Haftsubstanz 2 angeordnet, beispielsweise ein Acrylatpolymer. Der Träger 1 mit der Haftsubstanz 2 ist zur Entnahme einer Probe auf ein Hautstück aufgebracht worden, wobei nach dem Ablösen von der Haut die oberste Hautschicht 3 von den unteren Schichten mit abgezogen worden ist. Die Haftsubstanz 2 muß dazu so gewählt sein, daß eine Abtrennung der Hautschicht 3 erfolgt, beispielsweise so, daß eine einlagige Zellschicht entnommen wird. In Fig. 1b ist eine Aufsicht auf die Haut- oder Zellschicht 3 dargestellt. Die Aufsicht, die der Darstellung im Auflicht entspricht, zeigt klar die einzelnen Zellen 4 (schraffiert dargestellt) und das Gewebe zwischen den Zellen 4, die Zwischenräume 5. Durch optisches Ausmessen der Flächen und/oder der linearen Ausdehnungen sowohl der Zellen 4 als auch der Zwischenräume 5 kann eine Auswertung der Probe erfolgen. Sowohl die Bestimmung der Flächen — als auch der Ausdehnungsverhältnisse sowie gegebenenfalls der Kontrast- und Farbverhältnisse erfolgt zweckmäßig durch eine rechnergestützte Bildanalyse-Einrichtung, die auch die gewonnenen Daten auswerten und darstellen sowie ausdrucken kann.

Fig. 2 zeigt schematisch eine rechnergestützte Bildanalyse-Einrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach der Erfindung. Die jeweilige Probe 10, die der Probe gemäß Fig. 1 entspricht, wird mittels eines Mikroskops 11 erfaßt. Diesem ist eine Farbvideokamera 12 nachgeschaltet, die ihre Bildsignale an einen Rechner 13 liefert, beispielsweise einen nach dem neuesten Stand der Technik ausgestatteten Personalcomputer. Im Rechner 13 werden die von der Videokamera 12 aufgenommenen Bilder mittels eines Verarbeitungsprogramms nach dem Stand der Technik, beispielsweise dem Programm VIDAS der Firma Zeiss, verarbeitet und gespeichert. Dabei werden die dargestellten Strukturen, also die Zellen 4 und ihre Zwischenräume 5 in geometrisch definierten oder freien Auswahlbereichen selektiert. Danach kann eine Berechnung der jeweiligen

Flächen und/oder linearen Abmessungen der selektierten Strukturen erfolgen. Die dadurch gewonnenen Daten lassen sich weiter zur Darstellung von Werten verarbeiten, die als Grundlage für die Zustandsbestimmung der jeweiligen Probe dienen.

Die zur jeweiligen Probe gehörenden Daten, also sowohl die Bilddaten als auch die berechneten Werte und gegebenenfalls erläuternder Text und eine Identifizierung können zusammen und dauerhaft gespeichert werden, beispielsweise auf einem Festplattenspeicher im Rechner 13 oder einer Diskette. Dazu ist schematisch ein Diskettenlaufwerk 14 im Rechner 13 dargestellt. Auf einem Farbmonitor 15 können sowohl direkt die von der Kamera 12 gelieferten Bilder als auch nach einer Verarbeitung im Rechner 13 gewonnene Bilder und errechnete Daten dargestellt werden. Ein dauerhafter Ausdruck sowohl von Bildern als auch von Daten ermöglicht ein grafikfähiger Drucker 16.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur nichtinvasiven Feststellung von Zuständen an Hautgewebe- und Hautzellenrückseiten mittels einer Rechnerbildanalyse, **gekennzeichnet durch die Schritte:**

- a) dem Hautgewebe wird durch Aufbringen eines mit einer Haftsubstanz (2) versehenen Objektträgers (1) eine Probe (3) entnommen,
- b) der Objektträger (1) mit der anhaftenden Probe (3) wird im Auflicht auf die dem Objektträger (1) abgewandten Rückseite bildmäßig erfaßt,
- c) das Bild wird einer Auswertung unterzogen.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Entnahmeschritt a) zur Gewinnung von Proben (3) aus Schichten unterschiedlicher Tiefe der Haut mehrfach an der gleichen Stelle wiederholt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Probe (3) vor den Schritten b) und c) mit markierten Antikörpern präpariert wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Probe (3) vor den Schritten b) und c) selektiv gefärbt wird.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß beim Schritt b) ein Fluoreszenz-Mikroskopiervorgehen im Auflicht verwendet wird.

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß als Auflicht ultraviolettes Licht verwendet wird.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß beim Auswerteschritt c) das Längen- oder Breitenverhältnis, das Flächenverhältnis, das Helligkeitskontrastverhältnis oder/und das Farbabweichungsverhältnis von Probezellen (4) zu ihren Zwischenräumen (5), von Probezellen (4) zu vorgegebenen Referenzwerten oder/und von Zellzwischenräumen (5) zu vorgegebenen Referenzwerten erfaßt wird.

8. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 7, gekennzeichnet durch: ein Auflichtmikroskop (11) mit nachgeschalteter Videokamera (12), deren Ausgangssignale einem Rechner (13) zugeführt werden, der so programmiert ist, daß die gewünschte Auswertung gemäß Anspruch 7 durchführbar ist.

9. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß dem Rechner (13) ein Speicher (14) zur Aufnahme der Bilddaten und der bei der Auswertung gewonnenen Daten getrennt für die jeweiligen Proben zugeordnet ist.

10. Vorrichtung nach Anspruch 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, daß dem Rechner (13) ein Drucker (16) zur Ausgabe der gewonnenen Daten zugeordnet ist.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

Fig. 1

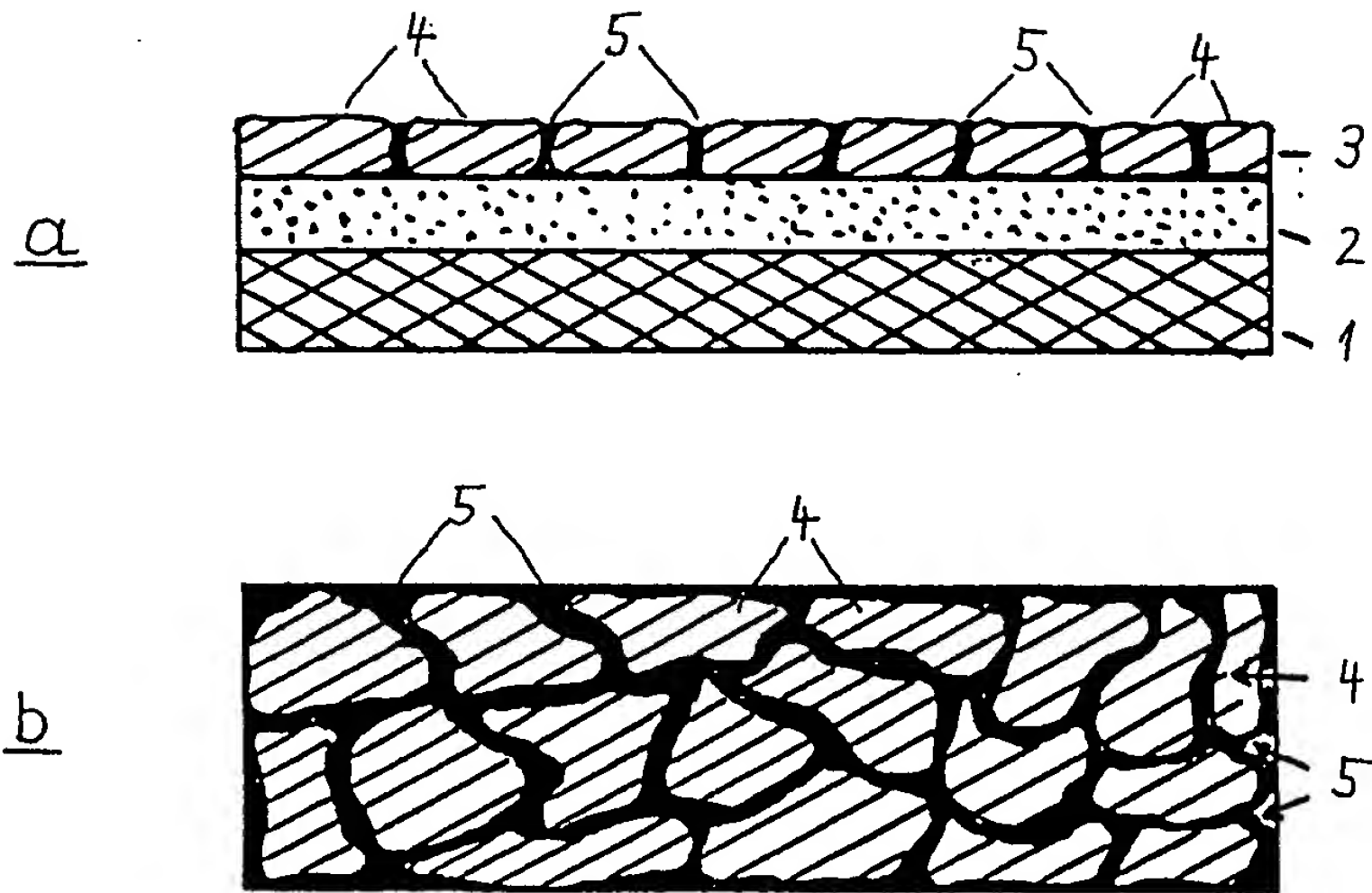


Fig. 2

